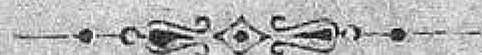
Serie III N. 23

Istituto di Anatomia Patologica della R. Università di Catania

diretto dal Prof. A. PETRONE

Contributo allo studio della colorabilità degli elementi cellulari viventi. Sulle attitudini funzionali degli epitelii ciliati della rana verso il bleu di metile.

Dott. A. MOTTA-COCO *(Settore-Assistente.)*



Lavoro estratto dalla
" **Rassegna Internazionale della MEDICINA MODERNA** "
Anno III, 1902 — N. 19

Uffici di Redazione ed Amministrazione del giornale

CATANIA: **Via degli Archi 70**.

CATANIA
TIP. ROMA DE' FRATELLI PERROTTA

1902

Rassegna Internazionale della MEDICINA MODERNA
ANNO III. — N. 19 — Agosto 1902.

Istituto di Anatomia Patologica della R. Università di Catania
diretto dal Prof. A. PETRONE

Omaggio dell'Autore

Contributo allo studio della colorabilità degli elementi cellulari viventi.
Sulle attitudini funzionali degli epitelii ciliati della rana verso il bleu di metile.

Dott. A. MOTTA-COCO *(Settore-Assistente.)*

La vecchia dottrina di *Gerlach* (1) sull' acromatofilia delle cellule animali viventi, fondata sulla sua prima scoperta della colorabilità col carminio del nucleo degli elementi anatomici morti, parve per un momento scossa e contradetta dai reperti presentati dall' *Ehrlich* e dai suoi discepoli. I risultati sperimentali del *Gerlach*, che mai vide colorati gli epitelii vibratili della rana, gli spermatozoi, le fibre muscolari, finchè erano vivi, vennero recisamente contrariati da altre osservazioni di colorazioni cellulari *intra vitam:* così incominciò a vacillare l' interpretazione data al fatto, mancando il fatto medesimo; perciò non avevano ragione d' invocarsi con vero assolutismo nè l' influenza di leggi fisico-chimiche e di forze vitali per spiegarlo, nè, come volle il *Beale* (2), la nuova reazione del nucleo delle cellule morte, capace di favorire l' imbibizione di tutto o parte dell' elemento con la sostanza colorante.

L' *Ehrlich* (3) notò che il sistema nervoso utilmente si presta per fissare il bleu di metile, la tionina, la dimeltionina, iniettati nell' animale vivo; ed il reperto positivo ottenuto l' interpretò per il solfo dei colori impiegati, utile per indurre un' attrazione specifica tra questi ultimi e certe sezioni del sistema nervoso. Lo stesso effetto lo constatò in altri tessuti, oltre le fibre sensitive, le terminazioni motrici, quelle dei nervi del gusto e dell' odorato, le altre dei muscoli lisci e dei muscoli del cuore, molte fibre nervose nei nuclei del midollo allungato, i reticoli comunicanti con le cellule gangliari della corteccia, i muscoli motori dell' occhio, del laringe e il diaframma.

Riandando a tempi antichi, troviamo tra i botanici due opposte schiere precedere i risultati del *Gerlach* e dell' Ehrlich. In Germania l' *Hartig* ed il *Maschke* (1) affermarono incondizionatamente che è necessaria la morte degli elementi per aversi la loro colorazione; in Inghilterra lord *S. G. Osborne* (2) sostenne il contrario, perchè attuò con felice successo l' idea di far germogliare e germinare le piante immerse con le radici o con i semi rispettivi in una soluzione di carminio, e vide che le parti in via di accrescimento assumevano con facilità e rapidità il colore impiegato.

Anche tra gli anatomici di quel tempo si agitò la stessa quistione, ed infatti registra la letteratura che *Flourens* colla garanza, *Lieberkün* e *Kölliker* colla garanza e poscia coll' alizarina riuscirono a colorare il tessuto osseo vivente; e parimenti *Chrzonszczewki, Diaconow, Heidenhain, Arnold, Thoma, Küttner, Gerlach, Nykamp, Zeller* ed altri, iniettando solfo indigosolfato di soda, indocarminio, carminio ammoniacale, ritrovarono colorati molti epitelii delle vie renali e biliari (3).

(1) I. Gerlach — Mikroscopiske Studien aus dem Gebiete der menschlichen Morphologie. Erlangen 1858. (Beiträge zur Structurlehre des Windungen des Kleinhirus).

(2) Beale — Howto work whit the microscope. Fourth Edition—London 1868.

(3) Ehrlich—Ueber die methylen blaureaction der lebenden Nervensubstanz Deutschen Medicinischen Wachenschrift. N. 4—1886—Berlin.

(1) Cfr. Gierke—Farberei zu mikroskopischen Zwecken (Zeitschrift. f. wiss. Mikroskopie. vol. I, 1884).

(2) Osborne — Transaction of the Microscopical Society. vol. V, 1856).

(3) Cfr. Pellacani — Colorabilità degli elementi dei tessuti—Imola—1900.

Fra tanta dovizie di reperti positivi, pochi solitarii si levarono a contraddirli, sostenendo con molta fermezza le idee del *Gerlach*. Ma per alcuni di costoro si può dire che basarono il loro concetto sopra un' ipotesi, e giammai su i risultati di osservazioni sperimentali; e di ciò è facile convincersene pensando solamente che il *Brandit* ed il *Certes* (1) si dichiararono contrarii all' *Erlich* perchè considerarono corpuscoli di grasso o di mucina le piccole granulazioni tingibili col bruno di *Bismarch* o con la cianina, contenute in alcuni infusorii, nei leucociti, in certi flagellati; mentre l'*Arnstein* (2) comprese che il materiale cromatico protoplasmatico rappresentasse un prodotto regressivo cellulare.

Tali ultime deduzioni non giunsero per nulla a colpire l' essenza delle nuove dottrine, che anzi queste rimanevano sempre più vivificate per altre esperienze. Nel campo dell' anatomia comparata animale e vegetale la cromatofilia si elevò a mezzo diagnostico per differenziare diverse parti del protoplasma variamente funzionante: lo attestano *Kowolewscki*, *Pfeffer*, *Brandt*; *Przesmycki* che affermò l' innocuità alla vita cellulare per la colorazione del nucleo; *Danilewcki* che giunse a colorare le actinie col bleu di metilene, e *Champell* che rilevò colorati elementi in mitosi (3).

D'altra parte il nuovo metodo dell'*Ehrlich* si applicò ben presto in un campo differente di ricerche. Per primo *Magini* (4) ritrovò colorati alcuni globuli rossi, in ettando bleu di metilene, nella rana vivente; *Poggi* (5) scopri che il fatto si ripete nell' uomo in caso di gravi anemie; *Bidone* (1), *Iovine* (2), *Belli* (3), *D. Riva* (4), *D' Amato* e *Villari* (5), riconfermarono il *Poggi*, apportando lievi modifiche alla tecnica o alla interpretazione del fenomeno ed alla sua genesi.

Ciò non ostante le antiche credenze non scomparvero assolutamente, che anzi esse persistettero, allargate nel loro significato, controllate con mezzi di tecnica sempre più perfezionati.

Il *Martinotti* (6) esperimentò coll' azzurro di metilene, col bruno di Bismark e con altri colori di anilina su i girini di rana. I suoi risultati in parte si concordono a quelli ottenuti dallo *Pfeffer* (7), in parte notevolmente se ne allontanano. Questi trovò che le cellnle vegetali viventi sono capaci d'immagazzinare nel solo protoplasma alcuni colori di anilina, mentre il nucleo rimarrebbe scolorato sino a che l' elemento si mantiene in vita: *Martinotti* ebbe gli stessi risultati, ma non ugualmente per tutte le cellule. In quanto alla capacità dei differenti colori di nuocere alla vita e alla funzione dell' elemento cellulare, aggiunse l' A. che alcuni sono indifferenti, certi velenosi, altri velenosissimi; pur' anche osservò che per la vitalità della cellula influiscono i colori sciolti in soluzioni isotoniche di cloruro di sodio.

La parte originale degli studii del *Martinotti* si riferisce all' azione dei colori per gli elementi in moltiplicazione. Utilizzò lo stesso materiale, asportando la coda ai girini, e, nella rapida riparazione delle parti demolite, notò che alcuni elementi carichi di granuli si moltiplicavano, senza però che tali granuli mostrassero alcun rapporto con i movimenti nucleari. Così il fatto messo in chiaro

---

(1) Cfr. Martinotti G.—Sopra l' assorbimento dei colori di anilina per parte delle cellule animali viventi — Giornale della R. Accademia di Medicina di Torino 1888.

(2) Armstein—Die Methylenblau—färbung ah histologische Methode (Anatomischer Anzeiger 1887).

(3) Cfr. Pellacani lav. cit.

(4) Magini — Boll. R. Acc. medica di Roma 1888-89.

(5) Poggi—Il Policlinico 1898.

(1) Bidone—Riforma medica 1898.

(2) Iovine — La Pedi..tria 1899.

(3) Belli — Il Policlinico 1900.

(4) Riva — La Clinica medica italiana 1900.

(5) D'Amato e Villari — Rivista di Clinica medica 1900.

(6) Martinotti, lav. cit.

(7) Pfeffer — Unter suchungen aus dem botanischen Institut zu Tübingen II, Bdr, II Heft. Leipzig. 1886.

servi a dimostrare che gli elementi con protoplasma tingibile non si possono considerare come parti in via di disfacimento, ma piuttosto è facile rinvenirli colorati nel pieno delle loro attività vitali.

Il *Petrone* (1) ha potuto constatare che le emasie, come tutte le forme cellulari, fin che vivono sono refrattarie alla colorazione, mentre man mano che muoiono assumono i colori e diffusamente si tingono.

Uu' altra volta risorta la controversia, le contestazioni si volsero verso i due seguenti capi principali, cioè: la colorazione *intravitam* si ha ugualmente nelle varie parti dell' elemento cellulare? la cromatofilia lascia sempre l'integrità funzionale della cellula?

Già abbiamo visto quanto hanno constatato *Pfeffer*, *Martinotti*, e prima ancora, lo *Schultze*, che ammise la colorazione dei bioblasti negli epitelii intestinali e renali dei girini immersi nel bleu di metilene; sappiamo che lo stesso *Martinotti* (2), in un altro lavoro, studiando la rigenerazione degli elementi glandolari, asserì e ripetè che il nucleo, finchè è vivo, non assorbe sostanze coloranti; ma ancora altre ricerche su questo indirizzo sono state condotte, e spesso con risultati contraddittorii.

Il *Galeotti* (3) seguì il *Certes*, *Brandt*, *Arnstein* e si associò al *Dogiel* per affermare che la cromatofilia cellulare annulla ogni potere vitale dell' elemento, e che è impossibile effettuirsi finchè residua in minima traccia una qualche sua attività funzionale. In prova della sua asserzione insistè sulla circostanza che le fibre nervose che si colorano intravitam, presentano grossolane modificazioni istologiche, che depongono per una degenerazione iniziale.

Il *Pellacani* (4) accusò di soverchio assolutismo le dottrine del *Gerlach*. Riportandosi alle sue esperienze, ammise un'elettività fisiologica e un' affinità molecolare tra l' elemento cellulare e la sostanza colorante introdotta nel sangue, attività ed elettività che dura per un certo tempo fino a che l' eliminazione del colore sarà promosso dalle proprietà fisiologiche della cellula viva. Egli a questo modo intese il fatto come l' effetto di ragioni intrinseche alla vita dell' elemento cellulare, e riferibili o a reazioni fisicochimiche del contenuto cellulare verso i colori, o ad attrazione molecolare di quello su questi o a vere energie fisiologiche che favoriscono la penetrazione del colore.

Anch' io condussi un lavoro sul genere, quando mi proposi di comprendere il significato delle emasie cianofile nel sangue circolante. A tal proposito o riducevo la resistenza organica della rana con l' iniezione di acido pirogallico, prima che avessi introdotto la sostanza colorante, o la mantenevo nei limiti fisiologici con la iniezione di un cosidetto colore vitale, qual' è il bleu di metilene, in soluzione fisiologica. Fui fortunato a provare che per l' azione emolitica del pirogallolo su i globuli rossi, aumenta considerevolmente il numero dei corpuscoli colorabili nel sangue circolante, e viceversa mantenendo l' isotonia del sangue con la soluzione di cloruro di sodio colorata (1).

Come si è visto, la discussione si è venuta man mano istradando sotto altre vedute. Negli ultimi tempi non si è contradetta la possibilità che hanno gli elementi cellulari a colorarsi; non ha preoccupato la constatazione per la quale si è potuto assodare la facilità a colorarsi di una parte più che di un'altra della cellula, sapendosi le ragioni che si oppongono per il nucleo a esser recettivo a certi colori, e i fattori che vi contribuiscono a far perdere ad esso la sua refrattarietà. Ogni in-

(1) Petrone — Boll. Acc. Gioenia di Scienze Naturali in Catania 1900.

(2) Martinotti — Iperplasia e rigenerazione degli elementi ghiandolari. Modena. 1890.

(3) Galeotti — Colorabilità delle cellule viventi. Zeitschrift f. Wiss. Mikros. 1894.

(4) Pellacani — lav. citato.

(1) A. Motta Coco — Su i globuli tingibili col bleu di metilene nel sangue circolante della zona. Boll. Acc. Gioenia di Scienze Naturali 1901. fasc. LXVIII.

dagine condotta su questo terreno potrebbe avere il significato ed il valore di conferma ad un fatto già da per se stesso confermato e riconfermato: ora s' addice fermare l' attenzione e fissare le varie fasi dell' elemento cellulare prima che muoia per il colore, conviene studiare il comportamento funzionale della cellula prossima a morire, la sua involuzione per l'azione violenta che si è fatta agire. E tutto ciò perchè interessa poco la conoscenza dell' effetto finale di una o un' altra sostanza tossica, mentre è di gran conto analizzare i varii momenti funzionali prima che la funzione medesima si spenga recisamente.

Compreso di questa utilità ho rivolto i miei tentativi sulla funzione vibratile in rapporto all' azione del bleu di metile sugli epitelii ciliati.

Per riuscirvi iniettavo dosi progressive di acido pirogallico, e conseguentemente il bleu di metilene in soluzione al 0, 10 $^0/_{000}$ nella cavità addominale.

Ecco quanto ho constatato:

I.

a) Dopo mezz' ora dell' iniezione di pirogallolo, a dose tossica, avendo contemporaneamente o poco dopo iniettato la soluzione colorante, si ferma il movimento nelle ciglia periferiche, e nello stesso tempo nel nucleo e attorno al nucleo compare una minima quantità di granuli colorati in azzurro. Ripristinate in lieve grado le ondulazioni ciliari, con una forte soluzione di cloruro di sodio iniettata sotto la pelle, la colorazione permane, ma non aumenta; quando la rieccitazione non si ottiene per nessun verso, la comparsa dei granuli aumenta progressivamente, mentre gradatamente diminuisce la vibrazione delle ciglia in senso centripeto. Dopo un' ora o poco più, allora che l'animale muore, cessa il movimento in tutte le ciglia, e coincide a questa fase la colorazione diffusa del protoplasma e nel nucleo si aumentano notevolmente i granuli colorati.

Rispecchiano l' essenza dell' esperienza surriferita tutti quanti i risultati dell' esame del sangue circolante, com'ebbi ad intrattenermi in un' altra mia precedente memoria. Cioè, man mano che aumenta il coloramento delle granulazioni protoplasmatiche e del nucleo, parimenti si è sorpresi dalla quantità considerevole di emasie a nucleo colorato nel sangue circolante, e nei capillari, ove la circolazione è arrestata, o eccessivamente rallentata, si raccolgono i corpuscoli colorati dal bleu di metile.

b) Decrescendo il titolo della soluzione del pirogallolo, si prolunga sempre più lo stadio vibratorio ciliare, avendo cura di conservare nelle stesse proporzioni la soluzione della sostanza colorante. Quando lo strato granulare si manifesta e risalta per la sua tinta azzurra, allora si inizia il periodo di stanchezza delle ciglia, il quale periodo segue nel suo evolversi le stesse modalità riferite per l'altra ricerca.

L' indebolimento nelle ondulazioni procede dalla periferia verso il centro, è interrotto di tratto in tratto da un movimento celere, a cui succede una lunga pausa, variabile in ogni caso per la sua durata, sempre bene apprezzabile dopo un' attenta osservazione, a causa del moto trasmesso dalle ciglia centrali che continuano a vibrare molto celeremente.

Questa intermittenza funzionale si fa sempre più manifesta nella fase ultima dell' esperimento, si estende a tutte le ciglia, e negii ultimi tempi si estrinseca con una specie di scotimento di tutte le ciglia in massa per la durata di qualche secondo, e quindi l' elemento, che si è colorato, muore.

I differenti stadii si svolgono in circa quattro ore, avvertendo che se ne può prolungare la durata a mezzo di opportune rieccitazioni delle contrazioni con il cloruro di sodio.

Il fatto più saliente dell' esperimento è dato dallo stato anatomico che assumono le ciglia nei varii momentl dell'osservazione. Esse presentano grossolane modificazioni istologiche; principalmente un aspetto varicoso, e contemporaneamente un' apparenza nodosa. Accade qualche

volta di trovare in qualche punto i nodi delle ciglia sgranati in una parte o nella totalità, mentre il nucleo ed il protoplasma si vedono cosparsi di granuli colorati.

II.

a) Per l' interesse dei risultati ottenuti, volli procedere ad altri saggi di conferma, modificando lievemente i dettagli dell' esperienza.

Così ho eseguito la ricerca: ho immerso delle piccole rane in una soluzione acquosa diluita di bleu di metile, contenente l' 1 % di pirogallolo, e dopo dodici ore ho incominciato l' osservazione.

A quest' epoca s' incomincia a notare che gli animali assumono una lievissima tinta bruno-azzurrognola. Iniziato l' esame dell' epitelio vibratile, si trova il protoplasma ed il nucleo cosparsi di granulazioni colorate, il movimento ciliare si è reso tardo e parziale, le ciglia sono notevolmente deformate.

Le granulazioni aumentano nelle ore successive, e nello stesso tempo le ondulazioni sempre più diminuiscono (dopo 16-18 ore); più tardi l' animale muore, ma pria di soccombere è scomparsa ogni minima traccia di moto, il protoplasma ed il nucleo si sono diffusamente ed intensamente colorati, tutto l' elemento cellulare subisce variazioni di forma e volume ed il plasma cellulare mostra una evidente disgregazione.

b) La riprova praticata con l'animale deposto in un bagno di soluzione fisiologica di bleu di metile aggiunge maggior valore al reperto precedente.

La rana si colora dopo 24 ore, poco più, poco meno; gli elementi vibratili, incolori in tutte le parti, continuano nel loro rapido movimento, vibrano per un tempo differente in rapporto alla temperatura ambiente e allo stato di nutrizione dell' animale; in ultimo, i primi elementi ad assumere i granuli colorati nel protoplasma e indi nel nucleo, sono quelli che primo affievoliscono il loro movimento ciliare.

c) Aumentando il titolo della sostanza colorante, senza l' aggiunta di acido pirogallico, gli effetti sul conto del movimento vibratile sono più rapidi e più marcati. La colorazione avviene tanto più presto, quanto maggiore è la concentrazione del colore; quando le proporzioni del bleu sono molto elevate, dopo 5-6 ore la colorazione prende tutto l' elemento ed il movimento definitivamente si arresta.

III.

Riunendo in una sola prova tutti e due i fattori, sotto ciascuno dei quali si è esperimentato in ognuna delle due precedenti ricerche, si ottengono i seguenti risultati: Una rana piccola s' inietta con dosi medie di acido pirogallico, e quindi s' immerge in soluzione di bleu di metile al 0. 10 ‰ fisiologica. Dopo 4-5 ore si arresta il movimento, aumenta il tono della colorazione del protoplasma e del nucleo dell' elemento vibratile, le ciglia si deformano, e la deformazione si estende sin' anche verso il polo della cellula ove le ciglia s' inseriscono.

IV.

Nelle precedenti esperienze si sono scelti elementi cellulari rigogliosi di vita, e questi si sono cimentati con le sostanze coloranti; ora riferisco i risultati conseguiti esaminando l' epitelio vibratile estratto dall' organismo e saggiato con il bleu di metile in soluzione fisiologica o con l' aggiunta di acido pirogallico. In altri termini ho voluto studiare la colorazione del protoplasma su elementi in stato di vita residuale.

a). L' epitelio vibratile di una rana comune, trasportato in un vetrino porta oggetti a celletta, contenente quest' ultima una soluzione fisiologica al 0, 10 % di azzurro di metile, rallenta il movimento dopo 6-7 ore, anche quando prima di questo tempo avesse mostrata una lieve colorazione protoplasmatica e nucleare.

b) Il bleu di metile sciolto in una soluzione diluita di acido pirogallico colora sin dalla terza ora l' elemento vibratile

e ne annulla assolutamente la sua funzione.

d) Riponendo sul vetrino poche goccie di una soluzione all'1 % di acido osmico, quindi l'epitelio, e immediatamente il colore in soluzione al 0, 10 ‰ fisiologica, gli elementi vibratili rapidamente sono invasi dal colore, mentre il moto completamente si arresta.

e) Lo stesso effetto si ha sotto l'influenza del sublimato o della formalina in soluzione al 2 %.

Ripassando i quattro gruppi di esperienze, per chi ha voglia di studiarle. si presenta la seguente domanda: quale azione spiega l'acido pirogallico sulla vita degli elementi cellulari, se questi sotto la sua influenza assumono con rapidità il bleu di metile?

Dal modo come si sono ottenuti gli stessi effetti che col pirogallolo, agendo sostanze fissatrici, come l'ac. osmico, il sublimato corrosivo, la formalina; dalla analogia di azione che si può riprodurre aumentando il titolo del colore, come se si usassero le sostanze sopradette, si comprende senza dubbio che la invasione del colore negli elementi minati dal pirogallolo si è resa tanto facile in quanto è stata disturbata l'integrità funzionale della cellula, diminuita la resistenza, inibiti i suoi poteri di difesa. Accade in tali circostanze e si ripete il fatto quotidianamente osservato in clinica, di organismi recettivi a certe infezioni, perchè scadute sono le loro attività fisiologiche: in una parola, quanto più basso è l'indice di resistenza organica, e molto indebolita si presenta la funzionalità degli organi, tanto meglio possono pigliare il sopravvento altre forme morbose, che prima invano aveano lottato contro le rigogliose proprietà difensive dei differenti territorii cellulari e, perciò, delle unità anatomiche di cui questi sono costituiti.

L'acido pirogallico, il bicloruro di mercurio, la formaldeide, l'acido osmico offendono i tessuti, li modificano nel loro metabolismo, deteriorano la funzione, come ogni altro fattore fisico farebbe agendo al di là di certi limiti; in tal guisa mancano le ragioni necessarie per opporsi alla penetrazione dei colori, manca il substrato organico indispensabile per la vita cellulare, mancano o fanno difetto tante condizioni utili a che la cellula possa continuare a vivere e a funzionare: l'elemento presto o tardi morrà, e, morendo, il colore meccanicamente lo tinge, come di un qualsiasi pezzo estratto dall'organismo e immerso in un bagno adeguato di sostanza colorante.

Crescendo il grado di concentrazione di bleu si creano gli stessi coefficienti di causalità verso le attività degli elementi cellulari come per la iniezione dei veleni succitati. Tutto ciò vuol dire che a dosi discrete l'azzurro di metile agisce da tossico cellulare: esso allora non può considerarsi come un colore vitale, perchè appena l'elemento appare lievemente colorato, significa che questo è morto e non ha più i poteri atti a respingere l'invasione di un materiale eterogeneo.

Un serio appunto ai miei risultati mi si potrà rivolgere basandosi sulle esperienze del *Mariotti;* perchè è ovvio che la riproduzione rappresenta la più alta funzione degli elementi cellulari, e quest'osservatore notò colorate alcune cellule in moltiplicazione.

Senza dubbio, il fatto esiste, data la maestria di chi l'ha raccolto, ma, a parer mio, è nell'interpretazione di esso che bisogna andar cauti per poter sfuggire alle apparenti contraddizioni. Ritrovando elementi colorati in fase cariocinetica, si può per questa sola circostanza assicurare che essi continuino a vivere, o piuttosto la morte non li abbia colti in quello stadio? Non possiamo sotto i nostri occhi seguire le varie fasi del processo mitotico nella stessa cellula; perciò non siamo in grado di stabilire rigorosamente a qual punto sia accaduta l'impregnazione del colore, se, cioè, dopo morta la cellula o poco prima, sempre però che fossero spente le funzioni di essa. Noi abbiamo bisogno di funzioni facilmente rilevabili, e per questo

molto bene si prestano gli epitelii ciliati e i globuli del sangue, nei quali l'arresto di ogni attività vitale si manifesta con la scomparsa del movimento ciliare e del movimento ameboide. Per analogia con gli epitelii ciliati, si può capire il fatto degli elementi in cariocinesi colorati, e con la scorta di quanto abbiamo osservato in quelli, c' è da dover indurre che quest'ultimi rappresentino forme cellulari nelle quali la funzione riproduttiva si sia fermata e non ha avuto tempo di svolgersi in tutte le sue fasi.

Ma v' ha di più. L' ipotesi è sempre più ammissibile in quanto si fonda su altri fatti obiettivi. Si è notato che negli epitelii ciliati colorati interviene una certa alterazione di struttura delle ciglia, che, se non altro, rivela l' inattitudine funzionale di queste appendici cellulari. Ora, per essere esatti, occorrerebbe studiare minutamente lo stato della cromatina nei nuclei in movimento cariocinetico, allo scopo di potervi scoprire qualche dato che possa giovare a giudicare della floridezza o meno della cellula.

Concludendo, la dottrina di *Gerlach*, almeno per quanto riguarda le attività funzionali cellulari, appare in senso assoluto riconfermata dai fatti sperimentali; poichè si è visto che un elemento funzionante è refrattario ai colori, mentre l'assume quando ogni potere vitale è quasi scomparso, quando esso ha perduto la capacità a funzionare.
